



Лаборатория клеточной терапии онкогематологических заболеваний ГАУЗ СО «Института медицинских клеточных технологий»

Савельев Леонид Иосифович

Заведующий лабораторией,
доцент кафедры клинической лабораторной
диагностики Уральского государственного
медицинского университета,
к.м.н., доцент

***Цаур Г.А.^{1,2,3,4}, Друй А.Е.^{2,5}, Солодовников А.Г.^{2,4},
Попов А.М.⁵, Шапочник А.П.⁶, Вахонина Л.В.^{1,2},
Власова А.А.¹, Ригер Т.О.^{1,2}, Вержбицкая Т.Ю.^{1,2},
Ольшанская Ю.В.⁵, Шориков Е.В.⁷, Аракаев О.Р.^{1,2},
Савельев Л.И.^{1,2,4}, Фечина Л.Г.¹***

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДЕЛЕЦИЙ ГЕНА *IKZF1* У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

¹ Областная детская клиническая больница № 1,
Екатеринбург, Россия;

² Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург,
Россия;

³ Уральский федеральный университет им. первого Президента России
Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия;

⁴ Уральский государственный медицинский университет,
Екатеринбург, Россия;

⁵ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия;

⁶ Оренбургский областной клинический онкологический диспансер,
Оренбург, Россия;

⁷ ООО «ПЭТ-Технолоджи», Екатеринбург, Россия

Резюме. Целью работы являлась оценка прогностического значения делеций *IKZF1* у 141 ребенка с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) Определение де-

лений *IKZF1* проводили методом множественной лигазной амплификации зондов. Делеции *IKZF1* были обнаружены у 15 (10,6%) пациентов, их чаще выявляли у детей старше 10 лет ($p=0,007$), при инициальном лейкоцитозе выше $30 \times 10^9/\text{л}$ ($p=0,003$) и наличии транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ ($p=0,003$). Наличие делеций сопровождалось замедленным клиренсом бластных клеток: МЗ-статусом костного мозга (КМ) на 15-й день индукционной терапии ($p=0,003$), отсутствием клинико-гематологической ремиссии ($p<0,001$), высоким уровнем минимальной остаточной болезни (МОБ) на 15-й, 36-й и 85-й дни терапии ($p=0,014$; $p<0,001$; $p=0,001$ соответственно). Больные с делециями *IKZF1* имели более низкие показатели бессобытийной выживаемости (БСВ) ($0,30 \pm 0,15$ и $0,89 \pm 0,03$; $p<0,001$) и общей выживаемости (ОВ) ($0,44 \pm 0,19$ и $0,93 \pm 0,02$; $p<0,001$) и более высокую кумулятивную вероятность развития рецидива ($0,67 \pm 0,18$ и $0,07 \pm 0,02$; $p<0,001$). Проведение многофакторного анализа показало, что делеции *IKZF1* являются независимым фактором, снижающим БСВ (относительный риск — ОР 4,755; 95% ДИ 1,856—12,185; $p=0,001$), ОВ (ОО 4,208; 95% ДИ 1,322—13,393; $p=0,015$) и увеличивающим риск рецидива (ОО 9,083; 95% ДИ 3,119—26,451; $p<0,001$). Наиболее ярко неблагоприятное прогностическое значение делеций *IKZF1* проявилось в группе промежуточного риска ($p<0,001$), а у больных из стандартной и высокой групп риска наличие делеций не было связано с прогнозом.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз; дети; прогноз; факторы риска; делеции гена *IKZF1*

Введение

Использование интенсивной программной полихимиотерапии (ПХТ) значительно улучшило прогноз течения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей. На сегодняшний день общая выживаемость пациентов (ОВ) превышает 90%, а бессобытийная (БСВ) — 80%. В то же время остаются отдельные группы больных, эффективность терапии в которых значительно ниже. Поиск и тщательная характеристика этих прогностически неблагоприятных групп необходима для корректной стратификации, своевременного планирования трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и использования новых таргетных препаратов.

Одной из таких групп с неблагоприятным исходом ОЛЛ являются больные с делециями в гене *IKZF1*, расположенном в хромосомном районе 7p12.2. Ген *IKZF1* состоящий из 8 экзонов, кодирует белок из

519 аминокислот, часто обозначаемый как IKAROS. Экзон 1 не транскрибируется, но, возможно, вместе с промоторным регионом регулирует транскрипцию гена [1]. Экзоны 4–6 кодируют четыре N-концевых цинковых пальца, которые необходимы для связывания с ДНК, а экзон 8 — два С-концевых цинковых «пальца», которые необходимы IKAROS для димеризации, а также для связывания с другими членами своего семейства белков [2, 3]. Данное семейство состоит из 5 белков, которые получили свои обозначения на основе имен персонажей греческой мифологии. Описано 9 изоформ белка IKAROS, синтезирующихся, преимущественно, вследствие альтернативного сплайсинга. Исключение составляет только изоформа 6, в подавляющем большинстве случаев образующаяся при делеции 4–7 экзонов гена *IKZF1* [1]. В норме IKAROS является транскрипционным фактором, и при этом он способствует дифференцировке лимфоидных клеток на самых ранних этапах лимфопоэза, блокирует их пролиферацию и контролирует миграционные свойства гемопоэтических клеток [8, 9].

У больных ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) описано около 30 точечных мутаций в гене *IKZF1* [10–14], однако наиболее частым генетическим событием в этом гене являются делеции. Делеции могут затрагивать как весь ген, так и отдельные экзоны гена *IKZF1* (так называемые «фокальные» делеции). Наиболее часто встречаются делеции экзонов 4–7, реже тотальные делеции всего гена (экзоны 1–8), еще реже делеции экзонов 2–7, 4–8, 2–3, 2–8 (даны в порядке убывания частоты) [10, 15–17].

Впервые связь делеций с прогнозом ВП-ОЛЛ была описана двумя исследовательскими группами в 2007 г. [18, 19]. После этого возник большой интерес к данной проблематике, и делеции в гене *IKZF1* были описаны не только при ВП-ОЛЛ у детей и взрослых. Было также показано, что они выявляются у подавляющего большинства больных Rh-позитивным ОЛЛ [6, 15, 20], а также более чем в половине случаев лимфоидного бластного криза при хроническом миелоидном лейкозе [15, 21], в 40% случаев при BCR-ABL1-подобном профиле экспрессии генов [22], и примерно у трети больных ОЛЛ и болезнью Дауна [23]. Во всех этих случаях делеции *IKZF1* являются независимым прогностическим фактором, связанным с неблагоприятным прогнозом заболевания. Также изредка делеции *IKZF1* встречаются при Т-линейных ОЛЛ [24], вторичном ОМЛ [25], однако в этих случаях их прогностическая роль остается неясной.

Взаимосвязь между делециями гена *IKZF1* и прогнозом ВП-ОЛЛ у

детей была показана многими исследовательскими группами (AIEOP, BFM, COG, DCOG, NOPHO) [11, 24, 26–28], однако в нашей стране, где в большинстве педиатрических клиник применяют протоколы группы Москва-Берлин (MB), подобное исследование ранее не проводили.

Цель исследования — оценить прогностическое значение делеций *IKZF1* у детей, больных ВП-ОЛЛ, получающих лечение по протоколу ALL-MB 2008.

Материалы и методы

В исследование было включен 141 пациент с ВП-ОЛЛ, получавших лечение по протоколу ALL-MB 2008 в Отделе детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1 (г. Екатеринбург) (n=120) и Детском онкологическом отделении Оренбургского областного клинического онкологического диспансера (n=21) с апреля 2008 г. по октябрь 2013 г. Критериями включения в данное исследование был диагноз ВП-ОЛЛ, возраст от 1 до 16 лет, а также наличие ДНК, выделенной из бластных клеток, взятых во время установления диагноза. В исследуемой группе было 75 (53,2%) мальчиков и 66 (46,8%) девочек в возрасте от 1,1 года до 16 лет (медиана возраста 3,15 года). Медиана времени наблюдения составила 4,2 года. Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании стандартных морфологических показателей [29] и данных иммунофенотипирования согласно критериям группы EGIL [30, 31]. Анализ хромосом выполняли в соответствии с международной номенклатурой хромосом человека, принятой на момент выполнения стандартного цитогенетического исследования [32–34]. В ходе данной работы все кариотипы были повторно оценены с учетом рекомендаций ISCN 2013 [34]. У 2 (1,4%) детей диагностирована болезнь Дауна. Все больные ВП-ОЛЛ также обследованы методом обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методика определения химерных транскриптов в целом идентична той, что мы описывали ранее [35, 36]. Исходя из критериев стратификации протокола ALL-MB 2008 [37] в группу стандартного риска были включены 62 (44,0%) больных, в группу промежуточного риска — 64 (45,4%), в группу высокого риска — 15 (10,6%) пациентов. Группу риска по критериям Национального института рака США (National Cancer Institute — NCI) [38] Деление на группы цитогенетического риска проводили согласно рекомендациям А. Моогман

и соавт. [39]. Группу «другие В-линейные ОЛЛ» ($n=83$, 58,9%) выделяли после исключения всех неслучайных количественных (высокая гипердиплоидия, гиподиплоидия) и структурных ($t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, $t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1$, перестройки $11q23/MLL$) цитогенетических aberrаций.

Определение минимальной остаточной болезни (МОБ) методом проточной цитометрии проводили по ранее описанной методике [40, 41] с выделением групп риска по результатам оценки на 15-й, 36-й и 85-й дни (а для группы высокого риска — после 1-го блока интенсификации) [42]. Оценку МОБ на 15-й день выполнили у 116 больных, на 36-й день — у 119, на 85-й день — у 118 больных.

Выявление делеций в гене *IKZF1* проводили методом множественной лигазной амплификации зондов (MLPA) с использованием наборов *SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1* и *SALSA MLPA P202 IKZF1* (IKAROS) (оба «MRC-Holland», Нидерланды) согласно инструкции производителя. Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SAS, Statistica 8.0 и R-statistics.

Результаты

Делеции в гене *IKZF1* выявлены у 15 (10,6%) пациентов. Делеция всего гена обнаружена в 3 (20%) случаях, самые частые из фокальных делеций — делеции экзонов 4–7 и экзонов 2–7 — обнаружены в 4 (26,7%) случаях каждая. Все выявленные делеции являлись моноаллельными.

Больные, у которых обнаружены делеции *IKZF1* старше остальных (медиана возраста 9,7 и 3,2 года соответственно; $p=0,007$), они чаще относились к группе высокого риска протокола ALL-MB 2008 (53,3% и 5,6% соответственно; $p<0,001$) и группе высокого риска по NCI (66,7% и 28,6% соответственно; $p=0,007$). У больных с делециями *IKZF1* чаще выявляли инициальный лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$ (60,0% и 21,3% соответственно; $p=0,007$) и транслокацию $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$ (13,3% и 0% соответственно; $p=0,003$). Наличие делеций *IKZF1* сопровождалось замедленным клиренсом бластных клеток: МЗ-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии выявляли у них чаще, чем у больных без делеций (40,0% и 9,4% соответственно; $p=0,003$), также чаще выявляли высокий уровень МОБ на 15-й, 36-й и 85-й дни терапии ($p=0,014$; $p<0,001$; $p=0,001$ соответственно). Кроме того, при наличии делеций *IKZF1* 4 пациентов (26,7%) не достигли клинико-гематологической ремиссии к 36-му дню индукции.

онной терапии, что было статистически значимо чаще, чем в группе без делеций (2,4%; $p<0,001$).

Больные с делециями гена *IKZF1* имели статистически значимо более низкую БСВ ($0,30\pm 0,15$ и $0,89\pm 0,03$ соответственно; $p<0,001$), что, в первую очередь, было обусловлено более высокой кумулятивной вероятностью развития рецидивов (КВР) этой группе ($0,67\pm 0,18$ и $0,07\pm 0,02$ соответственно; $p<0,001$). ОВ была статистически значимо ниже у больных с наличием делеций *IKZF1* по сравнению с теми, у кого делеции не были выявлены ($0,44\pm 0,19$ и $0,93\pm 0,02$ соответственно; $p<0,001$).

Однофакторный анализ всех инициальных переменных и показателей ответа на терапию (без учета данных определения МОБ) показал, что прогностически неблагоприятными факторами, влияющими на возникновение неблагоприятных событий у больных ОЛЛ, получавших лечение по протоколу ALL-MB 2008, кроме делеций *IKZF1*, являлись высокая группа риска при лечении по протоколу ALL-MB 2008 ($p<0,001$), высокая группа риска NCI ($p=0,001$), группа высокого цитогенетического риска ($p=0,032$), возраст старше 10 лет ($p=0,008$), инициальный лейкоцитоз как выше $30\times 10^9/\text{л}$ ($p=0,001$), так и выше $50\times 10^9/\text{л}$ ($p=0,001$), количество бластных клеток выше 1000 на 8-й день индукционной терапии ($p=0,033$), М3-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии ($p<0,001$), отсутствие клинико-гематологической ремиссии на 36-й день ($p<0,001$). В то же время, проведение многофакторного анализа выявило только три прогностически значимых показателя в исследуемой группе: делеции *IKZF1*, инициальный лейкоцитоз выше $30\times 10^9/\text{л}$ и более 25% бластных клеток на 15-й день терапии. Идентичные показатели оказались прогностически важными в многофакторном анализе и тех случаях, когда в качестве неблагоприятного события рассматривались только рецидивы или смерть по любой причине.

Различия в прогнозе между больными с делециями *IKZF1* и без них сохранялись для группы промежуточного риска при лечении по протоколу ALL-MB 2008 (БСВ $0,26\pm 0,22$ и $0,90\pm 0,05$; $p<0,001$; КВР $0,73\pm 0,30$ и $0,08\pm 0,05$; $p<0,001$), но не достигли статистической значимости у больных из группы высокого риска (БСВ $0,25\pm 0,15$ и $0,57\pm 0,19$; $p=0,467$; КВР $0,71\pm 0,19$ и $0,20\pm 0,18$; $p=0,179$). Интересно отметить, что в группу стандартного риска протокола ALL-MB 2008 было отнесено всего 2 пациента с делециями *IKZF1*, и оба они находятся в первой продолжающейся ремиссии.

Важно отметить, что даже при включении в многофакторную модель такого мощного показателя как МОБ, делеции *IKZF1* сохраняли свое независимое прогностическое значение по влиянию на БСВ, ОВ и риск рецидива. А внутри группы больных с делециями *IKZF1*, несмотря на малое количество наблюдений, результаты определения МОБ на 36-й и 85-й дни терапии позволяли разделить больных на группы с разным прогнозом. Так, при величине МОБ менее 0,1% на 36-й день БСВ пациентов с делециями *IKZF1* составила $0,67 \pm 0,27$, тогда как при более высокой МОБ—0 ($p=0,046$). А при любом положительном результате на 85-й день БСВ пациентов с делециями *IKZF1* также была существенно ниже по сравнению МОБ-негативными пациентами этой же группы (БСВ 0 и $0,69 \pm 0,19$ соответственно; $p=0,036$).

Обсуждение

Для выявления делеций *IKZF1* можно использовать разные методики: исследование спектра однонуклеотидных полиморфизмов (SNP array) [19], микроматричный анализ на чипах высокой плотности [26], прямое секвенирование [11], *MLPA* [43], ПЦР с детекцией методом капиллярного электрофореза [44]. Проведенные сравнительные исследования показали сходные результаты при использовании разных методов [11, 24]. Мы использовали метод *MLPA*, который ранее хорошо зарекомендовал для выявления делеций *IKZF1* [24, 27, 43]. Он технически легко выполним, и не требует специального оборудования, кроме амплификатора для ПЦР и оборудования для капиллярного электрофореза (в нашем случае — генетического анализатора ABI Prism 3130).

Выявленная нами частота делеций *IKZF1* у больных ВП-ОЛЛ (10,6%) оказалась несколько ниже, чем данные полученные в Швеции (15,0%) [45], Голландии (13,7%) [11], Италии (13,2%) [27] и Германии (12,1%) [24], но близка результатам, опубликованными исследователями из Тайваня (10,7%) [44]. В то же время у детей с ОЛЛ в Чехии, была получена даже более низкая частота распространенности делеций *IKZF1* (6,8%) [46]. Скорее всего, выявленные различия связаны с географическими особенностями, вследствие разного этнического состава населения.

Опубликованные данные о спектре делеций *IKZF1* показали, что наиболее частыми являются делеции экзонов 4–7 и всего гена (экзоны 1–8), на долю которых суммарно приходится около 70% всех делеций [17, 24, 27]. Наши данные показали несколько меньшую отно-

сительную частоту этих наиболее частых вариантов, которые суммарно были выявлены нами у 47% больных. У наших пациентов двумя самыми частыми вариантами были делеции экзонов 2–7 и 4–7, выявленные в 26,7% случаев каждая, а делеция всего гена встречалась несколько реже — в 20,0%. Возможно, что причиной полученных различий может быть относительно небольшое число выявленными нами случаев с делецией *IKZF1*. Однако этот вопрос требует отдельного изучения на большей выборке больных.

Нами были получены убедительные данные о взаимосвязи делеций *IKZF1* с показателями ответа на терапию по протоколу ALL-MB 2008. Больные с делециями *IKZF1* статистически значимо чаще имели М3-статус КМ на 15-й день терапии, высокий уровень МОБ на 15-й, 36-й и 85-й дни терапии. Сходные результаты о связи делеций с высоким уровнем МОБ были получены и другими исследователями [24, 27, 45, 46]. Ранее нами было показано, что как и в рамках других зарубежных протоколов терапии ОЛЛ, при лечении по протоколу ALL-MB 2008 величина МОБ на разных этапах терапии является одним из наиболее значимых факторов негативного прогноза [38]. Однако, даже в присутствии такого мощного фактора риска как МОБ, делеции *IKZF1* сохраняли свое независимое прогностическое значение при ВП-ОЛЛ у детей. Интересно, что внутри групп как с делециями *IKZF1*, так и без них высокий уровень МОБ имел важное прогностическое значение.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного нами анализа было показано, что делеции гена *IKZF1* являются независимым фактором, ухудшающим прогноз ВП-ОЛЛ у детей. Наиболее ярко это проявилось в группе промежуточного риска, а также среди группы «другие В-линейные ОЛЛ». Больные с делециями *IKZF1* имели более медленный ответ на терапию. Прогностическое значение делеций *IKZF1* сохранялось в разных подгруппах больных, выделенных по другим факторам риска. Считаем, что тестирование на статус гена *IKZF1* должно быть обязательным для всех детей с ВП-ОЛЛ. В то же время, полученные результаты должны быть уточнены в рамках многоцентровой группы терапии ОЛЛ с включением большего количества больных.

Благодарности

Авторы выражают благодарность всем врачам и медицинским се-

отдел Отдела детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО ОДКБ №1.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Olsson L., Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2015; 169(4): 479—491.
2. Payne K.J., Huang G., Sahakian E., Zhu J.Y., Barteneva N.S., Barsky L.W., et al. Ikaros isoform α is selectively expressed in myeloid differentiation. *J. Immunol.* 2003; 170(6): 3091—3098.
3. Francis O.L., Payne J.L., Su R.J., Payne K.J.. Regulator of myeloid differentiation and function: the secret life of Ikaros. *World J. Biol. Chem.* 2011; 2(6): 119—125. doi: 10.4331/wjbc.v2.i6.119.
4. Morgan B., Sun L., Avitahl N., Andrikopoulos K., Ikeda T., Gonzales E. et al. Aiolos, a lymphoid restricted transcription factor that interacts with Ikaros to regulate lymphocyte differentiation. *EMBO J.* 1997; 16(8): 2004-2013.
5. Kelley C., Ikeda T., Koipally J., Avitahl N., Wu L., Georgopoulos K., et al. Helios, a novel dimerization partner of Ikaros expressed in the earliest hematopoietic progenitors. *Curr Biol.* 1998; 8(9): 508-515.
6. Iacobucci I., Iraci N., Messina M., Lonetti A., Chiaretti S., Valli E., et al. IKAROS deletions dictate a unique gene expression signature in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40934. doi: 10.1371/journal.pone.0040934.
7. http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000185811;r=7:50304124-50405101. Электронный ресурс. Режим доступа 01.07.2016
8. Koipally J., Georgopoulos K. Ikaros interactions with CtBP reveal a repression mechanism that is independent of histone deacetylase activity. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(26): 19594—19602.
9. Joshi I., Yoshida T., Jena N., Qi X., Zhang J., van Etten R.A., et al. Loss of Ikaros DNA-binding function confers integrin-dependent survival on pre-B cells and progression to acute lymphoblastic leukemia. *Nature Immunol.* 2014; 15(3): 294—304.
10. Mullighan C., Su X., Zhang J., Radtke I., Phillips L., Miller C., et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *The New England J. Med.* 2009; 360(5): 470—480.
11. Kuiper R., Waanders E., van der Velden V., van Reijmersdal S.,

Venkatachalam R., Scheijen B., et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia*. 2010; 24(7): 1258—1264.

12. Waanders E., van der Velden V., van der Schoot C., van Leeuwen F., van Reijmersdal S., de Haas V., et al. Integrated use of minimal residual disease classification and IKZF1 alteration status accurately predicts 79% of relapses in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2011; 25(2): 254—258.

13. Roberts K., Li Y., Payne-Turner D., Harvey R., Yang Y., Pei D., et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(11): 1005—1015.

14. Olsson L., Albitar F., Castor A., Behrendtz M., Biloglav A., Paulsson K., Johansson B. Cooperative genetic changes in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with deletions or mutations of IKZF1. *Genes Chromosomes Cancer*. 2015; 54(5): 315—325. doi: 10.1002/gcc.22245.

15. Mullighan C., Miller C., Radtke I., Phillips L., Dalton J., Ma J., et al. BCR-ABL1-lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature*. 2008 ; 453(7191): 110—114.

16. Olsson L., Castor A., Behrendtz M., Biloglav A., Forestier E., Paulsson K., et al. Deletions of IKZF1 and SPRED1 are associated with poor prognosis in a population-based series of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia diagnosed between 1992 and 2011. *Leukemia*. 2014; 28(2): 302—310.

17. Boer J., van der Veer A., Rizopoulos D., Fiocco M., Sonneveld E., de Groot-Kruseman H., et al. Prognostic value of rare IKZF1 deletion in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: an international collaborative study. *Leukemia*. 2016; 30(1): 32—38.

18. Kuiper R., Schoenmakers E., van Reijmersdal S., Hehir-Kwa J., van Kessel A., van Leeuwen F., et al. High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia*. 2007; 21(6): 1258—1266.

19. Mullighan C., Goorha S., Radtke I., Miller C., Coustan-Smith E., Dalton J., et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2007; 446(7137): 758—764.

20. Martinelli G., Iacobucci I., Storlazzi C.T., Vignetti M., Paoloni F., Cilloni D., et al. IKZF1 (Ikaros) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMEMA AL WP report. *J.*

Clin. Oncol. 2009; 27(31): 5202—5207.

21. Nakayama H., Ishimaru F., Avitahl N., Sezaki N., Fujii N., Nakase K., et al. Decreases in Ikaros activity correlate with blast crisis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res.* 1999; 59(16): 3931—3934.

22. van der Veer A., Waanders E., Pieters R., Willemse M., van Reijmersdal S., Russell L., et al. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood.* 2013; 122(15): 2622—2629

23. Buitenkamp T., Pieters R., Gallimore N., van der Veer A., Meijerink J., Beverloo H., et al. Outcome in children with Down's syndrome and acute lymphoblastic leukemia: role of IKZF1 deletions and CRLF2 aberrations. *Leukemia.* 2012; 26(10): 2204—2211.

24. Dorge P., Meissner B., Zimmermann M., Moericke A., Schrauder A., Bouquin J.P., et al. IKZF1 deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica.* 2013; 98(3): 428—432.

25. Jaeger R., Gisslinger H., Passamonti F., Rumi E., Berg T., Gisslinger B., et al. Deletions of the transcription factor Ikaros in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia.* 2010; 24(7): 1290—1298.

26. Chen I.M., Harvey R., Mullighan C., Gastier-Foster J., Wharton W., Kang H., et al. Outcome modeling with CRLF2, IKZF1, JAK, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study. *Blood.* 2012; 119(15): 3512—3522.

27. Palmi C., Valsecchi M.G., Longinotti G., Silvestri D., Carrino V., Conter V., et al. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica.* 2013; 98(8): 1226—1231.

28. Öfverholm I., Tran A.N., Heyman M., Zachariadis V., Nordenskjöld M., Nordgren A. et al. Impact of IKZF1 deletions and PAX5 amplifications in pediatric B-cell precursor ALL treated according to NOPHO protocols. *Leukemia.* 2013; 27(9): 1936—1939.

29. Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flandrin G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br. J. Haematol.* 1976; 33(4): 451—458.

30. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of

Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995; 9(10): 1783—1786.

31. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia*. 2011; 25(4): 567—574. doi: 10.1038/leu.2010.312.

32. Shaffer L., Tommerup N., eds. *ISCN 2005: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2005). Basel: Karger; 2005.

33. Schaffer L., Slovak M., Campbell L., eds. *ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2009). Basel: Karger; 2009.

34. Schaffer L., McGovan-Jordan J., Schmid M., eds. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2013). Basel: Karger; 2013.

35. Цаур Г.А., Наседкина Т.В., Попов А.М., Каленник О.В., Солодовников А.Г., Ригер Т.О. и др. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология*. 2010; 5(2): 46—54. [Tsaur G.A., Nasedkina T.V., Popov A.M., Kalennik O.V., Solodovnikov A.G., Riger T.O., et al. Prediction of outcome in infants acute lymphoblastic leukemia by time to achievement of molecular remission. *Oncohematology (Oncogematologia)*. 2010; 5(2): 46—54. (in Russian)]

36. Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2011; 4: 107—111. [Tsaur G.A., Druy A.E., Popov A.M., Semenikhina E.R., Riger T.O., Ivanova A.S., et al. Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in patients with oncological disorders. *Bulletin of the Ural Medical Academic Research. Russian Journal (Vestnik Uralskoy medicinskoj akademicheskoy nauki)*. 2011; 4: 107—111. (in Russian)]

37. Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Романова К.И., Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: современные возможности и нерешенные проблемы. *Доктор.Ру*. 2015; (10): 30-37. [Litvinov D.V., Karelin A.F., Romanova K.I., Rumyantseva Yu.V. Karachunsky A.I. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children: current possibilities and unsolved problems. *Doctor.ru*. 2015; (10): 30—37. (in Russian)]

38. Smith M., Arthur D., Camitta B., Carroll A.J., Crist W., Gaynon P.

et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14(1): 18—24.

39. Moorman A., Ensor H., Richards S., Chilton L., Schwab C., Kinsey S., et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11(5): 429—438.

40. Цаур Г.А., Попов А.М., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Онкогематология.* 2016; 11(1): 62-74. [Tsaur G.A., Popov A.M., Fechina L.G., Rummyantsev S.A. Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias. *Oncohematology (Oncogematologia).* 2016; 11(1): 62—74. (in Russian)]

41. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Шориков Е.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г. Алгоритм применения проточной цитометрии для мониторинга минимальной остаточной болезни при CD10-негативном остром лимфобластном лейкозе из В-линейных предшественников. *Вопросы диагностики в педиатрии.* 2012; 5: 31—35. [Popov A.M., Verzhbitskaya T. Yu., Tsaur G. A., Shorikov E.V., Saveliev L.I., Fechina L.G. Methodology of flow cytometry application for minimal residual disease monitoring in childhood CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Diagnostics in Pediatrics. (Voprosy diagnostiki v pediatrii).* 2012; 5: 31—35. (in Russian)]

42. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Солодовников А.Г., Аракаев О.Р., Стренева О.В. и др. Применение проточной цитометрии для определения минимальной остаточной болезни у детей с острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколам со сниженной интенсивностью. *Онкогематология.* 2015; 10(4): 44—55. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A., Solodovnikov A.G., Arakaev O.R., Strenева O.V., et al. Flow cytometric minimal residual disease monitoring in children with acute lymphoblastic leukemia treated by regimens with reduced intensity. *Oncohematology (Oncogematologia).* 2015; 10(4): 44—55. (in Russian)]

43. Schwab C., Jones L., Morrison H., Ryan S., Yigittop H., Schouten J., Harrison C. Evaluation of multiplex ligation-dependent probe amplification as a method for the detection of copy number abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes*

Cancer. 2010; 49(12): 1104—1113. doi: 10.1002/gcc.20818.

44. Yang Y., Hung C., Chen J., Lin K., Jou S., Hsiao C., et al. IKZF1 deletions predict a poor prognosis in children with B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia: a multicenter analysis in Taiwan. *Cancer Sci.* 2011; 102(10): 1874—1881.

45. Olsson L., Ivanov Öfverholm I., Noren-Nystrom U., Zachariadis V., Nordlund J., Sjogren H., et al. The clinical impact of IKZF1 deletions in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia is independent of minimal residual disease stratification in Nordic Society for Paediatric Haematology and Oncology treatment protocols used between 1992 and 2013. *Br. J. Haematol.* 2015; 170(6): 847—858. doi: 10.1111/bjh.13514.

46. Volejnikova J., Mejstrikova E., Dörge P., Meissner B., Zimmermannova O., Svojgr K., et al. Ikaros (IKZF1) alterations and minimal residual disease at day 15 assessed by flow cytometry predict prognosis of childhood BCR/ABL-negative acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Blood and Cancer.* 2013; 60(3): 420—427. doi: 10.1002/pbc.24299.